

学校编码: 10384  
学号: 200226065

分类号 \_\_\_\_\_ 密级 机密  
UDC \_\_\_\_\_

厦 门 大 学  
\_\_\_\_ 硕 士 学 位 论 文

在甲胺磷胁迫下牙鲆、斑马鱼脑组织差异蛋白质组的研究

Differential Proteome from the Encephalon Tissue both  
*Paralichthys olivaceus* and *Danio rerio* under the Stress of  
Methamidophos

作者: 包晓东

指导教师姓名: 黄河清 教授、博导

专 业 名 称: 生物化学与分子生物学

论文提交日期: 2006 年 月 日

论文答辩时间: 2006 年 月 日

学位授予日期: 2006 年 月 日

答辩委员会主席: \_\_\_\_\_

评 阅 人: \_\_\_\_\_

2006 年 月

## 厦门大学学位论文原创性声明

兹呈交的学位论文，是本人在导师指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文而产生的权利和责任。

声明人（签名）：

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版,有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅,有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索,有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

- 1、保密 (√), 在 2009 年解密后适用本授权书。
- 2、不保密 ( )

(请在以上相应括号内打“√”)

作者签名: 日期: 年 月 日

导师签名: 日期: 年 月 日

# 目 录

厦门大学学位论文著作权使用声明 .....	II
目 录 .....	III
中 文 摘 要 .....	1
ABSTRACT .....	2
第一章 前言 .....	4
第一节 水体有机磷农药污染的概述 .....	4
1.1 有机磷污染概况 .....	5
1.2 有机磷农药的生物学毒性 .....	6
1.3 有机磷农药的毒理学 .....	12
1.4 甲胺磷及其生物学毒性 .....	14
第二节 有机磷农药水体污染的监测与生物标志物 .....	15
2.1 酶蛋白标志物 .....	16
2.2 免疫标志物 .....	17
2.3 细胞与核酸标志物 .....	17
2.4 铁蛋白捕获重金属离子与有机小分子 .....	17
第三节 蛋白质组学及其进展 .....	18
3.1 蛋白质组学研究的主流技术手段 .....	19
3.2 其他蛋白质组学概念和技术 .....	23
第四节 与有机磷相互作用的体内蛋白质 .....	25
第五节 本论文的研究科学意义 .....	26
第二章 材料与方法 .....	28
第一节 实验材料 .....	28
1.1 生物材料 .....	28
1.2 常用试剂 .....	28
1.3 仪器设备 .....	29
1.4 实验试剂的配制 .....	29
第二节 实验方法 .....	33

2.1 样品制备 .....	33
2.2 气相色谱分离 .....	34
2.3 BRADFORD 法测定蛋白含量 .....	34
2.4 第一向等电聚焦电泳 .....	34
2.5 第二向 SDS-PAGE 电泳 .....	35
2.6 凝胶的染色 .....	35
2.7 蛋白质的肽质量指纹鉴定 .....	36
<b>第三章 优化鱼脑组织蛋白质组的分离与鉴定 .....</b>	<b>38</b>
<b>第一节 蛋白的提取方法 .....</b>	<b>38</b>
1.1 细胞破碎与样品制备 .....	38
1.2 裂解液配方 .....	42
<b>第二节 双向电泳 .....</b>	<b>43</b>
2.1 等电聚焦 .....	43
2.2 平衡与 SDS-PAGE .....	47
2.3 凝胶染色 .....	48
<b>第三节 蛋白的鉴定 .....</b>	<b>49</b>
3.1 胶内酶解 .....	49
3.2 质谱数据处理 .....	50
<b>第四节 建立鱼脑蛋白质组学方法 .....</b>	<b>51</b>
4.1 材料与方法 .....	51
4.2 结果分析 .....	53
<b>第四章 结果与讨论 .....</b>	<b>59</b>
<b>第一节 在甲胺磷胁迫下, 牙鲆及斑马鱼的脑组织形态学观察 .....</b>	<b>59</b>
1.1 光学显微镜形态学观察 .....	59
1.2 电子显微镜形态学观察 .....	61
<b>第二节 气相色谱法测定牙鲆及斑马鱼脑组织中的甲胺磷残存量 .....</b>	<b>69</b>
<b>第三节 甲胺磷胁迫下牙鲆及斑马鱼脑组织的差异蛋白质组学 .....</b>	<b>71</b>
3.1 牙鲆脑组织的差异蛋白质组学 .....	71
3.2 斑马鱼脑组织的差异蛋白质组学 .....	76
<b>第四节 结果与讨论 .....</b>	<b>81</b>
3.1 光学显微镜及电子显微镜下的形态学观察 .....	82
3.2 气相色谱法测定牙鲆及斑马鱼脑组织的甲胺磷残存 .....	83

3.3 牙鲆及斑马鱼脑组织的差异蛋白质组 .....	84
<b>第五章 小 结 .....</b>	<b>99</b>
<b>附录：牙鲆及斑马鱼脑差异蛋白的部分 PMF 图谱 .....</b>	<b>101</b>
<b>缩略语表： .....</b>	<b>110</b>
<b>参考文献 .....</b>	<b>112</b>
<b>攻读硕士学位期间发表论文 .....</b>	<b>123</b>
<b>致谢 .....</b>	<b>124</b>

## Table of Content

<b>Chinese Abstract</b>	1
<b>Abstract</b>	2
<b>Chapter I Preface</b>	4
<b>1. Introduction of pollution by OPs in water bodies</b>	4
1.1 The general situation of OPs pollution	5
1.2 The biological toxicity of OPs pesticide	6
1.3 The toxicological research on OPs pesticide	12
1.4 Methamidophos and its biological toxicity	14
<b>2. The biomarkers and monitoring contamination on OPs</b>	15
2.1 The enzymes	16
2.2 The immunological biomarkers	17
2.3 The cellular biomarkers and nucleic acid	17
2.4 The ferritin reactor	17
<b>3. Progress on proteomic research and its techniques</b>	18
3.1 The mainstream technology in proteomics	19
3.2 The novel conceptions and technology in proteomics	23
<b>4. The interaction with OPs and proteins</b>	25
<b>5. Significance and content of this thesis</b>	26
<b>Chapter II Materials and methods</b>	28
<b>1. Materials</b>	28
1.1 Life Materials	28
1.2 Experiment reagents	28
1.3 Main equipment	29
1.4 Preparations of reagent	29
<b>2. Methods</b>	33
2.1 The treatment with experiment animal and sampling methods	33

2.2 Separation of MAP with GC-Chromatography·····	34
2.3 Measure the protein concentration of sample with BRADFORD·····	34
2.4 First dimension isoelectric focusing electrophoresis·····	34
2.5 Gel strip equilibration and second-dimension SDS-PAGE·····	35
2.6 Gel staining·····	35
2.7 Identification of protein PMF after silver stain·····	36
<b>Chapter III The optimization in this experiment·····</b>	<b>38</b>
<b>1. The solubilization of total proteins ·····</b>	<b>38</b>
1.1 The cell disruption·····	38
1.2 The cell lysis buffer ·····	42
<b>2. The two dimensional electrophoresis·····</b>	<b>43</b>
2.1 First dimension isoelectric focusing electrophoresis·····	43
2.2 The second-dimension SDS-PAGE·····	47
2.3 Gel staining·····	48
<b>3. The identification of proteins·····</b>	<b>49</b>
3.1 The enzymolysis in gel·····	49
3.2 To identify with PMF data·····	50
<b>4. Optimazed methods on the proteomics of encephalon tissues·····</b>	<b>51</b>
4.1 Meterials and methods·····	51
4.2 Results and discussion·····	53
<b>Chapter IV The experimental results and discussion·····</b>	<b>59</b>
<b>1. The morphology of encephalon tissues with MAP exposure·····</b>	<b>59</b>
1.1 The microscopic results·····	59
1.2 The ultramicroscopic results·····	61
<b>2. Separation of MAP remains with GC-Chromatography·····</b>	<b>69</b>
<b>3. Differential proteomics of encephalon tissues with MAP exposure·····</b>	<b>71</b>
3.1 Differential proteomics from <i>Paralichthys olivaceus</i> ·····	71
3.2 Diffrentrial proteomics from <i>Denio rerio</i> ·····	75
<b>4. Discussions·····</b>	<b>80</b>



<b>Chapter IV Conclusion</b> .....	98
<b>Appendix: Some of the PMF maps</b> .....	100
<b>Abbreviations</b> .....	108
<b>References</b> .....	110
<b>Papers uttered by the auther during the study</b> .....	123
<b>Acknowledgment</b> .....	124

## 中文摘要

连续监测流动水体中有机磷农药的污染程度及其危害性是目前我国环境科学研究领域中亟待解决的重大问题之一。本实验选用 10ppm 和 100ppm 甲胺磷浓度为急性毒性剂量,以斑马鱼为比对模型,以牙鲆为研究对象,进行甲胺磷污染物胁迫实验;采用生物工程下游技术提取、分离和纯化蛋白质组,筛选差异蛋白组;选用蛋白质组分析技术鉴定差异蛋白质的组成、结构与功能。

采用显微和电子显微技术研究牙鲆及斑马鱼脑组织受甲胺磷胁迫前后的组织结构变化情况,发现牙鲆脑组织结构受甲胺磷破坏程度明显大于斑马鱼。这说明了牙鲆脑组织对甲胺磷敏感度较高。气相色谱方法分析牙鲆和斑马鱼脑组织中的甲胺磷转换速率,发现甲胺磷在鱼脑内具有高效转化特点,推测这是引起鱼脑组织结构发生明显变化的主要起因之一。

采用液氮冻溶破碎细胞、裂解液提取和微量超速离心技术,分别优化提取、分离与纯化牙鲆和斑马鱼脑组织蛋白质组。优化分离鱼脑组织蛋白质组,获得较好的分辨率和重复性,其可识别的蛋白质斑点数目至少 1000 点以上。采用分步提取及超速离心法可获得鲤鱼脑组织的高分辨率电泳图谱,鉴定了由甲胺磷胁迫前后,鲤鱼脑表达的差异蛋白质组成与功能,并建立一套筛选鱼脑组织生物标志物的分析与鉴定技术。

筛选牙鲆和斑马鱼脑组织经甲胺磷处理前后的差异蛋白质组,其中在牙鲆脑组织中发现 27 个蛋白质斑点数目发生明显变化,即 12 个斑点上调,15 个斑点下调;在斑马鱼脑组织中,发现 13 个蛋白质斑点发生较为明显的变化,其中 7 个斑点上调,5 个斑点下调,一个斑点增加。经肽指纹技术和数据库鉴定后,这些差异蛋白质多数潜在有生物监测甲胺磷污染程度的应用价值和科学意义,例如 Rho 蛋白质。

采用 LOCtree 软件对差异蛋白质组进行细胞定位,其结果为正确理解甲胺磷毒理学机理起着极其重要的作用奠定良好的研究基础。甲胺磷胁迫牙鲆和斑马鱼脑组织过程中所表达的部分差异蛋白质潜在着作为生物标志物的应用价值,并适合于连续监测流动水体中甲胺磷的污染程度。

**关键词:** 有机磷农药, 污染监测, 差异蛋白质组学

## Abstract

One of the significant and exigent projects in environmental science in China is to monitor the contamination level of organophosphate pesticides (OP) and its crisis in flowing water continuously. In this communication, using 10 and 100 ppm of methamidophos (MAP) as experimental dose of acute toxicity (AT), both fishes *Paralichthys (p) olivaceus* as experimental sample and *Denio rerio* (zebrafish, DR) as reference model were induced in response to MAP of AT. The proteome both fishes were extracted, separated, and purified by various downstream techniques of biotechnology. The differential proteome both fishes were separated and selected by two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis (2D-PAGE) and Melanie 4 software analysis. Moreover, the composition, structure and function of these differential proteins were further identified by proteomic analytical techniques.

The variable trend of cell structure in the encephalon tissue both fishes under the stress condition of MAP were visualized by the microscope and the transmission electron microscopy (TEM), indicating that the destroyed level of tissue structure in *P. olivaceus* showed higher than that in DR. It is well seen that the encephalons both fishes showed high sensitivity in response to MAP. The dissipative rate of MAP within the fish encephalon was measured by gas-chromatography (GC), indicating that MAP decrement showed the characteristics of high rate. We suggest that this high rate play an important role in effecting on change of molecular structure and protein characteristics in the encephalon tissue both *P. olivaceus* and *D. rerio*.

The encephalon tissues both two fishes were optimizely extracted, separated and purified by freezing-thawing disruption with liquid nitrogen, harsh denaturizing lysis -buffer solubilization and ultracentrifuging purification. High resolution and repetition both samples with separated 2D-PAGE were observed, recognizing protein spots over 1000 each gel with Melanie 4 software analysis. The similar results were still obtained in traumatic *Cyprinus carpio* (CA). The composition and function of these differential proteins within the encephalon tissues of CA under the stress of

MAP were identified by proteomic tool. Base on this analyzing datum, we established a set of analytical and identified techniques for selecting biomarkers in the fish encephalon under the stress of MAP.

We selected the differential proteome both fish encephalon tissues treated with MAP, finding that total significant 27 protein changes evidently in *P. olivaceus*, 12 were up-regulated, 15 were down-regulated in the gel. In *Denio rerio*, total 13 significant protein changes, indicating that 7 were up-regulated, 5 were down-regulated, and one high expression in the gel. Most of these differential proteins identified with peptide mass fingerprinting (PMF) and database search showed the potential for monitoring the contamination level of MAP such as Rho protein,

With the aid of LOCTree, the cellular locations of differential proteins were predicted, with which a good base was founded on the understanding the toxicology of MAP in right way. As a limited affirmative suggestion the author believes some of the differential proteins in *Paralichthys olivaceus* and *Denio rerio* induced by MAP are practically useful as potential biomarkers, and appropriate to be utilized in estimating the stressing intensity from the MAP pollution in flowing water body continuously.

**Key words:** organophosphate pesticide, contamination monitoring, differential proteomics

## 第一章 前言

### 第一节 水体有机磷农药污染的概述

人类科技的进步正在深远地改变着我们所居住着这个星球的每一角落，而作为技术进步的副产品，环境污染也紧随其后，侵入了人们踏足的每一片领域。

水污染是人类最早认识到的环境污染之一，也是影响最为广泛的环境问题之一。根据我国 1984 年颁布、1996 年修订的《中华人民共和国水污染防治法》，“水污染”是指水体“因某种物质的介入，而导致其化学、物理、生物或者放射性等方面特征的改变，从而影响水的有效利用，危害人体健康或者破坏生态环境，造成水质恶化的现象”。造成水体性质改变的物质也就是污染物通常有多种来源，主要分为自然产生和人为产生两种。其中危害严重的“有毒污染物”则是指那些“直接或间接为生物摄入后，导致该生物或其后代发病、行为反常、遗传异变、生理机能失常、机体变形或者死亡的污染物”<sup>[1]</sup>。可见，水污染可以被理解为水中的污染物数量超过了水体自净能力，达到了破坏水的原有用途的程度；污染物含量超过了水中该物质的本底值，进而影响了水的用途。近 20 年来，我国在水污染防治方面已经进行了大量调研、立法和控制工作，取得了显著成效。不过我国水资源污染的现状仍然相当严峻，在 2003 年度对我国长江黄河等 7 大水系 409 个重点监测断面的调查中发现，29.7% 的断面属于劣 V 类水质。其中七大水系干流的 118 个国控断面中，IV、V 类水质断面占 37.3%，劣 V 类水质断面占 9.3%<sup>[2]</sup>，可以预见水污染在未来的多年内，依然会是我国可持续性发展道路中的重要制约因素。

水污染按照污染物的种类可以分为化学污染、物理污染和生物污染等，其中的化学污染又可以分为有机物污染和无机物污染两类。有机污染物本身有一定的生物积累性、毒性和致癌、致畸、致突变的“三致”作用，一些有机物对人的生殖功能可以产生不可逆的影响。因此有机污染领域已成为国际环保工作者研究的热点，在我国，随着加入世界经济贸易的全球化进程，对有机污染监测和控制也越来越引起政府及有关部门重视<sup>[3]</sup>。

在各类水污染中，化学有机污染物是当今水污染中一大污染源，一般是由于水域接纳了工业废水、农田排水和生活污水所致。农田排水中的大量农药、

化肥和生活污水中的很多需氧有机物,是造成化学水污染的重要原因。在这些有机污染中,农药造成的水污染影响范围广,危害大,持续时间长,是世界范围的环境难题。

农药按照化学结构类型主要可分为:有机磷、有机氯、氨基甲酸酯、拟除虫菊酯、有机氮、有机硫等二十余类;按照使用目的则可分为:杀虫剂、除草剂、杀菌剂、生长调节剂等十余类。在我国的农药产品结构中仍以杀虫剂为主,杀虫剂的生产量占农药总产量的 75%左右,其中有机磷杀虫剂又占杀虫剂总产量的 77%,在年产量万吨以上的 6 个杀虫剂品种中,有 5 个是有机磷杀虫剂。根据统计资料显示,在我国农药中毒死亡的事故中,杀虫剂约占 80%左右的比例,而在杀虫剂中,又以高毒有机磷农药为主,主要包括甲胺磷、甲基对硫磷、对硫磷、乐果、氧乐果等等,占 90%以上<sup>[4]</sup>。

目前全世界可用作农药的化学物质大约有千余种,制剂达数万个,对环境造成了严重的威胁。据不完全统计,全世界每年有 200 万人农药中毒,其中死亡约 4 万人。近十年来,我国平均每年发生农药中毒事故高达 10 万人,死亡近 1 万人。更为严重的是农药大量使用后带来的残留问题,有机氯农药在禁用多年后仍然在各环境介质中存在,威胁环境安全,而以前被认为易于降解的有机磷农药,目前也被发现在环境中长期残留的现象,甚至可能成为新的持久性有机污染物(POPs)<sup>[5]</sup>。例如不久前在北极冰层中,竟然也检测到了有机磷农药的残留<sup>[6]</sup>,可见有机磷农药带来环境危害的程度可能已经远远超出了人们原先的估计,有必要对其进行更加全面和深入的检测与分析。

遗憾的是目前我国在有机污染方面的研究及监测仍然较少,对水环境的有机污染引起的危害多有估计不足,对有机污染的控制和治理,也还未能研究制定出完全有效的对策。而我国是农药生产和使用的世界第一大国,也是农药环境污染事故的频发地区,切实加强对农药的监控和管理可以说是势在必行。为了探讨如何将最新的生物学研究技术结合到我国有机磷农药污染检测这一领域中的问题,我们首先有必要对有机磷的污染概况以及有机磷农药的毒理、毒性、代谢和现有的检测技术做一个简要的回顾。

### 1.1 有机磷污染概况

有机磷农药是指分子结构中含有C-P键或C-O-P, C-S-P, C-N-P 键的有机化

合物。根据化学键的不同,有机磷农药主要可以分为5种类型:磷酸酯类,如敌敌畏等;一硫代磷酸酯类,如对硫磷等;二硫代磷酸酯类,如乐果等;麟酸和麟酸酯类,如敌百虫等;磷酰胺类和硫代磷酰胺类,如甲胺磷等。可以看出,以上五种类型中只有麟酸和麟酸酯类含有C-P键,是有机化学定义下的真正有机磷化合物,其他几类都是无机酸酯或者酰胺,但由于它们拥有相似的生物学效应,在生产实践中被统称为有机磷农药<sup>[7]</sup>。

有机磷农药的应用始于上世纪的上半叶, Schrader等通过一系列研究,发现氟磷酸酯和氨基氟磷酸酯类化合物可以通过抑制胆碱酯酶,对昆虫造成致死性伤害。随后Schrader 又合成了高效杀虫剂对硫磷(1605),并得到了十分广泛的应用,至今仍为杀虫剂的重要品种(由于对硫磷的高残留和对哺乳动物的高毒性,现已在我国禁止用于蔬菜等作物)。此后,美国氰胺公司于发现了一个哺乳动物低毒的杀虫剂马拉硫磷,德国拜耳公司合成另一类具有内吸杀虫活性的内吸磷。由于有机磷类杀虫剂具有高效、低成本、作用谱广等优点,在随后的半个多世纪里,有机磷农药的研究和生产得到了稳定的发展,并成为世界上最主要的化学农药之一。目前,大量不同类型的有机磷农药品种已经被人们所研发和应用,全世界有140余种有机磷化合物作为农药,其中绝大多数为杀虫剂,在我国约有30多种有机磷农药被用于生产当中。在这些品种中,磷酸酯类、一硫代磷酸酯类以及二硫代磷酸酯类占大多数,少数属于麟酸酯,而且多属于混酯。除此此外,还有少数属于磷酸胺酯和硫代磷酰胺酯类<sup>[8]</sup>。

## 1.2 有机磷农药的生物学毒性

### 1.2.1 有机磷农药的危害途径

随着有机磷农药的广泛应用,在其生产,运输和使用各个环节中,都可能出现对人和环境的威胁。商品有机磷农药大多数为混合乳油,具有类似大蒜的特殊气味,在碱性条件下分解较快。进入机体的方式可为呼吸,吞食或者直接接触,在机体内通过血液、淋巴快速运送至各个器官,一般以肝脏含量为最高,其次是肾、肺和骨骼,肌肉以及脑组织中分布较少。

在生产活动中,农药的施用形式、防护措施、污染后的处理和安全使用培训等都是影响农药中毒的主要因素。如果进入人体的有机磷超过了正常人的最大耐受限度,就会对人的正常生理功能受到影响,出现一系列的病理症状,严重的

导致死亡。除了产生健康危害,流通的商品如果受到有机磷污染也会造成明显的经济损失。2002年,汪锡灿等对江苏省6个市县的3类食品共257份样品进行了有机磷农药残留量的调查检测,出有机磷农药,检出率为9.0%,其中13份超标,超标样品占总样品5.1%,占检出样品的56.5%<sup>[9]</sup>。

如果有机磷进入环境中并超过了其自净能力,就会造成环境污染。近年来,由于有机磷农药的大量使用和有机磷工厂工业废水的大量排放,使得我国许多地区的环境特别是水体均遭到了不同程度的污染。农药生产加工厂家的排放废水如果未经有效处理就会直接污染下游水体;而农业生产中使用的农药,一般也只有10—20%附着于目的作物,而其余部分则通过空气、降水、地表和地下径流等途径进入江河湖海;此外,在渔业生产中,由于过度使用有机磷农药试剂来杀灭体外寄生虫等敌害生物,也对水体环境造成了重要影响。

对厦门市以及周边地区水体的有机磷污染情况,先前已经有多篇研究论文专门讨论。1999年,张珞平等通过模型对厦门地区农药的地球化学行为、分布及其产生的结果进行预测计算,并对沿岸海域环境进行了初步的环境风险评价,发现虽然有机氯农药毒性较大,但厦门地区用量小;而有机磷农药用量较大,并因其亲水性强,毒性较大,对厦门海域生态系统产生危害的风险最大<sup>[10]</sup>。2002年,张祖麟等对福建河口水体中有机磷农药的风险进一步进行了评价。通过分析九龙江口水体中17种有机磷农药的含量与行为特征,认为甲胺磷、氧乐果、敌敌畏等农药对福建河口的生态环境安全已经构成一定的威胁<sup>[11]</sup>。

## 1.2.2 有机磷农药的毒性

### 1.2.2.1 急性中毒与慢性中毒

农药对水生生物的毒性是评价其环境危害程度的重要指标,主要包括急性毒性和慢性富集性危害两项指标,这种危害可以体现在水生植物和水生动物上。有机磷农药对水生植物的影响主要在于抑制其生长和繁殖,Pisca等发现,湖泊中的自养生物受到乐果的影响后,光合作用被抑制,进而导致湖泊总产量和净产量的降低<sup>[12]</sup>。蔡阿根等通过对甲胺磷胁迫下3种微藻的观测研究,指出甲胺磷对不同微藻光合作用速率的影响有较大的差别,并认为碳水化合物可能是金藻细胞内的碳水化合物含量受甲胺磷抑制影响最为显著的原因之一<sup>[13]</sup>。唐学玺则认为,有机磷胁迫使微藻细胞的膜脂过氧化作用加强,进而导致细胞膜结构的破坏和功



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库